



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555626_0050

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. M. Eder

Cytophotometrische Bestimmung des DNS-Gehaltes von
Belegzellen des Rattenmagens

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Marlies Ditlmann
aus München

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. B. Wiebecke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. Eder

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 7. 1977



I. Inhalt und Zusammenfassung

II. Einleitung

1. Veranlassung
2. Zielsetzung und Gliederung
 - a) Begründung
 - b) Typologie
 - c) Charakteristika
3. Darstellung des Gegenstandes
4. Aufbau des Buches
5. Meinen Eltern gewidmet
6. Schluss

III. Darstellung des Gegenstandes

1. Einleitung
2. Darstellung des Gegenstandes
 - a) Begründung
 - b) Typologie

IV. Zusammenfassung

V. Literaturverzeichnis

VI. Nachwort

Inhaltsverzeichnis

Seite

I.	Einleitung und Problemstellung	1
II.	Methodik	6
1.	Versuchstiere	6
2.	Zellgewinnung und -isolierung	6
a)	Belegzellen	6
b)	Lymphozyten	7
c)	Dünndarmepithelien	8
3.	Herstellung der Ausstrichpräparate	9
4.	Messung des DNS-Gehaltes der Zellkerne	11
5.	Statistische Berechnungen	12
III.	Durchführung und Untersuchungen der Ergebnisse	14
1.	Zellgewinnung und -behandlung	14
2.	DNS-Bestimmungen der Zellkerne	18
a)	Lymphozytenkerne als Bezugssystem	18
b)	Belegzellen	19
IV.	Diskussion	25
V.	Zusammenfassung	27
VI.	Literaturverzeichnis	28

I. Einleitung und Problemstellung

=====

Die Belegzellen kommen in allen Abschnitten der Fundusdrüsen des Magens vor. Im Drüsenhals und im Bereich des Isthmus findet man sie am häufigsten (BREUNSBACH 1970; Abb. 1). Sie sind größer als die Hauptzellen und in der Regel etwas vom Drüsenlumen abgedrängt. Aufgrund ihres Mitochondrienreichtums sind die Belegzellen deutlich granuliert (PLENK 1932). Der große, meist zentral liegende Kern mit dem deutlichen Nucleolus, das stark granuliertes Cytoplasma und die auffällige Azidophilie machen die Belegzellen schon in einem mit Hämalaun-Eosin gefärbten Präparat deutlich erkennbar.

Die Vorstellungen über die Regeneration der Belegzellen sind bis heute uneinheitlich. Dabei stehen sich im wesentlichen zwei Auffassungen gegenüber. Ein Teil der Autoren betrachtet die Belegzellen als ein sich selbst regenerierendes System, wobei als Beweis mitotische Belegzellteilungen angeführt werden. Eine andere Gruppe von Untersuchern glaubt, daß sich Belegzellen aus Vorläuferzellen im Bereich der Proliferationszone des Isthmus und des Drüsenhalses differenzieren und bis in den Drüsengrund einwandern.

Die letztgenannte Annahme stützt sich im wesentlichen auf neuere autoradiographische Untersuchungen, bei denen die Zellkerne durch den selektiven DNS-Vorläufer 3H-Thymidin in der DNS-Synthesephase markiert werden, und die Weiterentwicklung und Wanderung der markierten Zellen über längere Zeit verfolgt werden können.

Wegen der sehr langen Lebensdauer der Belegzellen, die von JIRMANN (1971) mit 625-1500 Tagen angegeben wird, fanden MESSIER und LEBLOND (1960) bei autoradiographischen Untersuchungen kurze Zeit nach 3H-Thymidin Injektion nur wenige markierte Belegzellen. Die Tatsache, daß dieser Markierungsindex bis zum Ende des Experiments nach 95 Tagen konstant blieb, sprach gegen eine Vermehrung der Belegzellen durch Selbstteilung. RAGIN et al. (1968) konnten bei Mäusen, die kurz nach 3H-Thymidin Injektion unter-

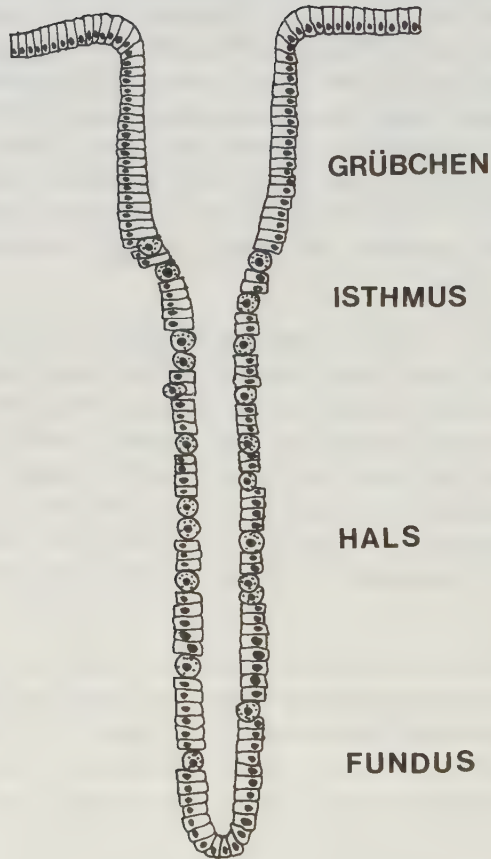


Abb. 1: Schematische Darstellung einer Fundusdrüse.
Runde und granulierte Zellen = Belegzellen
Grübchen: Oberfläche bis oberste Belegzelle
Isthmus: oberste Belegzelle bis oberste Nebenzelle
Hals: oberste bis unterste Nebenzelle
Fundus: unterste Nebenzelle bis Drüsengrund

sucht wurden, keine markierten Belegzellen finden. Dagegen zeigten sich bei Mäusen, die fünf bis sieben Tage später untersucht wurden, relativ viele markierte Belegzellen. Dieses Ergebnis sprach für eine Differenzierung der Belegzellen aus Vorläuferzellen. Auch WILLEMS et al. (1972) kamen nach ausführlicheren autoradiographischen Untersuchungen an Mäusen zu ähnlichen Ergebnissen. Eine Stunde nach einmaliger Injektion von 3H-Thymidin fanden sich keine markierten Belegzellen, 24 Stunden nach mehrmaligen Injektionen nur sehr wenige, die hauptsächlich im oberen Drüsenbereich lokalisiert waren. Acht Tage später war die Zahl der markierten Belegzellen jedoch wesentlich angestiegen. Die Dichte der Silberkörner pro Belegzelle blieb über 90 Tage konstant, was ebenfalls gegen eine Belegzellteilung sprach. Innerhalb dieser Zeit wurden jedoch zunehmend mehr markierte Belegzellen in den tiefen Drüsenabschnitten gefunden. Diese Ergebnisse sprachen für eine Differenzierung der Belegzellen aus Vorläuferzellen des Halsbereichs mit anschließender Wanderung in die tieferen Fundusdrüsenabschnitte.

Auch elektronenmikroskopische Untersuchungen von LAWN (1960) deuten in die gleiche Richtung. Er fand feinstrukturelle Unterschiede zwischen den Belegzellen des Drüsengrundes und des Halsbereichs und hielt letztere für Übergangszellen. RUBIN (1968) kam nach licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchung von Magenschleimhautbiopsien zu der Ansicht, daß die undifferenzierten Zellen im Isthmus und oberen Halsbereich Vorläufer der Oberflächenepithelien, der Nebenzellen und wahrscheinlich auch der Belegzellen sind. HUNT und HUNT (1962) sahen bei autoradiographischen Untersuchungen an Ratten sechs Tage nach 3H-Thymidin Injektion eine Abnahme der markierten Nebenzellen und gleichzeitig eine Zunahme der markierten Belegzellen. Daraus schlossen sie auf eine Transformation der Belegzellen aus Nebenzellen. In die gleiche Richtung deutete auch ein älterer Versuch von HUNT (1958), wobei sich nach experimentell gesetzter Verletzung der Magenschleimhaut zunächst die Oberflächenzellen, dann die Nebenzellen und später die Belegzellen differenzierten. LAWSON (1970) sah nach 3H-Thymidin Applikation bei Mäusen zunächst keine markierten Belegzellen. Nachdem die Tiere aber 24 Stunden nach Verabreichung des 3H-Thymidins für neun Minuten einer Ganzkörperbe-

strahlung mit 750 rad ausgesetzt worden waren, zeigten sich drei Tage später markierte Belegzellen. Auch dieses Ergebnis läßt auf eine Differenzierung der Belegzellen aus Vorläufern schließen.

Der Annahme, daß die Belegzellen sich durch Differenzierung aus Vorläuferzellen regenerieren, stehen jüngere und ältere Beobachtungen von Belegzellmitosen gegenüber.

Obwohl STEVENS und LEBLOND (1953) im Colchicinarretierungsversuch über vier Stunden und TEIR (1952) bei Colchicingabe über sechs Tage keine Belegzellmitosen in der Magenschleimhaut von Albinoratten nachweisen konnten, berichteten bereits HARMS (1910) und ZIMMERMANN (1925) über Belegzellmitosen bei der Maus in den oberen Drüsenabschnitten. Beide Autoren vertraten die Ansicht, daß die Belegzellen sich hier durch mitotische Teilung vermehren und anschließend in den Drüsengrund einwandern. Auch BREUNSBACH (1971) und KLEIN (1969) schlossen aus dem Nachweis von Belegzellmitosen auf eine direkte Regeneration der Belegzellen.

Die Mehrzahl der erwähnten Untersuchungen, insbesondere aber die autoradiographischen Untersuchungsergebnisse, lassen darauf schließen, daß die Belegzellregeneration in der Regel auf dem Wege der Zelldifferenzierung aus undifferenzierten Vorläufern erfolgt. Der zweifelsfreie Nachweis von Belegzellmitosen durch einige Untersucher zeigt andererseits, daß die Belegzelle nicht unter allen Umständen eine irreversibel postmitotische Zelle darstellt. Insbesondere scheint eine unphysiologisch starke funktionelle Stimulierung die mitotische Teilung der Belegzellen auszulösen. Dies geht aus den Beobachtungen von KLEIN (1969), BREUNSBACH (1971), JIRMANN (1971) hervor. Diese Untersucher fanden Belegzellmitosen nach submaximaler Stimulierung durch Pentagastrin. Auch nach Magenteilresektion wurden in der Nähe des Resektionsrandes zahlreiche Belegzellmitosen neben einer gesteigerten mitotischen Aktivität von Oberflächenepithelien und Nebenzellen beobachtet (GOKEL 1974).

JIRMANN (1971) beobachtete bereits nach einwöchiger submaximaler Stimulierung von Ratten mit Pentagastrin eine Zunahme der Belegzellen um 20 %. Er beschrieb neben Belegzellmitosen auch das Vorkommen mehrkerniger Belegzellen. Indessen war der Markierungsinde x der Belegzellen 50 Minuten nach 3H-Thymidin Injektion gering

und lag nicht wesentlich über dem unbehandelten Kontrolltiere.

Die Diskrepanz zwischen der offensichtlich sehr geringen DNS-Synthese der Belegzellen unter Pentagastrinstimulierung und der erheblichen Zunahme der Belegzellzahl innerhalb einer Woche zwang zu der Überlegung, ob unter derartig unphysiologischen Stimulierungen bei einem Teil der Belegzellen mitotische oder amitotische Teilungen ohne vorausgehende DNS-Synthese stattfinden könnten. Grundlage einer derartigen "Notfallreaktion" wäre jedoch das Vorhandensein tetraploider Belegzellen.

Die Frage, ob unter normalen Verhältnissen ein Teil der Belegzellen einen doppelten oder n-fachen DNS-Gehalt besitzt, ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Entsprechende Untersuchungen sind aus der Literatur nicht bekannt. Um einen direkten Bezug zu den Ergebnissen von JIRMANN (1971) herzustellen, wurden als Versuchstiere ebenfalls Ratten verwendet. Der DNS-Gehalt der Belegzellkerne wurde photometrisch erfaßt. Da bei DNS-Bestimmungen am histologischen Schnitt notwendigerweise Fehlbestimmungen vorkommen, wurden die Untersuchungen an Ausstrichpräparaten von Belegzellen durchgeführt, wobei jeweils die ganzen Belegzellkerne zur Messung zur Verfügung standen.

II. Methodik

=====

1. Versuchstiere:

Für die Gewinnung von Belegzellen und Dünndarmepithelien wurden fünf erwachsene, männliche Wistar Ratten von ca. 300 g Körpergewicht verwendet. Wegen der Involution des Thymus waren gleich alte Ratten für die Gewinnung von Thymuslymphozyten ungeeignet. Für diesen Zweck wurde daher eine jugendliche männliche Wistar-Ratte von 140 g Körpergewicht verwendet. Alle Tiere erhielten Standard-Preßfutter (Altromin) und Wasser ad libitum.

2. Zellgewinnung und -isolierung:

a) Belegzellen

Als Arbeitsgrundlage diente die von SIN HANG LEE (1972) angegebene Methodik, welche jedoch stark modifiziert werden mußte.

Die Ratten wurden mit Narkoseäther getötet, die Mägen sofort entnommen, entlang der großen Krümmung aufgeschnitten und Nahrungsreste mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Dann wurden die Mägen unter gleichmäßiger Spannung mit Stecknadeln auf eine Korkplatte geheftet. Die Mucosa des Fundus wurde mit einem Skalpells vorsichtig bis auf die Muscularis propria abgeschabt. Das so gewonnene Schleimhautmaterial wurde drei Stunden in 4 %igem mit $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ gepuffertem Formalin bei Zimmertemperatur fixiert.

Die Verwertung der fünf Rattenmägen erfolgte in fünf gleichen Arbeitsvorgängen vormittags zwischen 8 und 10 Uhr.

Nach der Fixierung wurden die Mucosastückchen abgefiltert und mit reichlich physiologischer Kochsalzlösung nachgespült, um das Formalin möglichst weitgehend zu entfernen und eine Inaktivierung des im nachfolgenden Arbeitsgang zugefügten Trypsins zu verhindern.

Um die Zellen zu dissoziieren, wurde das Schleimhautmaterial dann drei Minuten lang bei 37°C im Wasserbad unter starkem Bewegen mit

Trypsin behandelt. Dafür wurde eine 0,5 %ige Trypsinlösung hergestellt, wobei als Lösungsmittel für das Trypsin (DIFCO 1:250)* 0,25 m Sucrose diente, die mit 1 n HCl auf pH 7,4 eingestellt und mit 0,05 m Imidazol gepuffert worden war.

Durch Verdünnen mit 20 ml eiskalter Sucrose wurde die Trypsineinwirkung gestoppt. Diese Lösung wurde dann mittels einer Pipette über eine doppelte Schicht Nylonstoff gefiltert. Das Filtrat wurde sofort in Eis gestellt, der Arbeitsgang mit dem jeweiligen Filterrückstand noch zweimal wiederholt.

Das Filtrat wurde dann auf vier 20 ml-Zentrifugenröhrchen verteilt und 10 Minuten lang in einer Kühlzentrifuge bei 250 g zentrifugiert. Die Überstände wurden abpipettiert und verworfen. Sodann wurde das Sediment jeweils in 5 ml 0,5 m Sucrose suspendiert (häufiges Aspirieren mit der Pipette), die Suspension vorsichtig über 5 ml 0,88 m Sucrose geschichtet und fünf Minuten bei 60 g zentrifugiert. Dann wurden die Überstände bis auf ca. 1 ml äußerst vorsichtig abpipettiert.

Durch nochmaliges Zentrifugieren (10 Minuten bei 250 g) wurde ein Sediment gewonnen, in dem die Belegzellen angereichert waren. Zur Herstellung der Ausstrichpräparate wurde dieses Sediment mit wenigen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert. Von dem Belegzellmaterial eines Rattenmagens wurde jeweils ein Ausstrichpräparat angefertigt.

b) Lymphozyten

Der Thymus einer sechs Wochen alten, 140 g schweren männlichen Ratte wurde in kleine Stücke zerschnitten und zur Entfernung von Blut- bzw. Lymphresten mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Fixierung und Trypsinbehandlung wurden wie im vorstehenden Abschnitt beschrieben durchgeführt. Während der Trypsinierung wurde das Gewebe durch häufige kräftige Aspiration mit einer nadellosen 10ml-Spritze weiterhin zerkleinert. Nach Beendigung der Trypsinierung wurde die Suspension 10 Minuten lang bei 250 g in der Kühlzentrifuge zentrifugiert, der Überstand entfernt, das

*) Trypsin 1:250 wandelt sein 250faches Eigengewicht von Casein in Proteide, Peptide und Aminosäuren um.

Sediment für die Herstellung der Zellausstriche mit wenig physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und nach der Blutausschmichmethode ausgestrichen (Abb. 2).

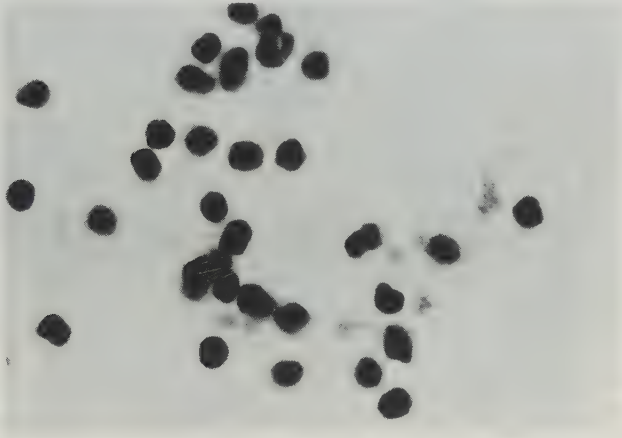


Abb. 2: Lymphozytenausstrich, HE, Objektivvergrößerung 63fach. Der Ausstrich enthält nur nackte Lymphozytenkerne, die infolge Formalinfixierung entrundet sind.

c) Dünndarmepithelzellen

Bei einer 300 g schweren männlichen Ratte wurde ein ca. 8 cm langes Jejunumstück entnommen, der Darm längs aufgeschnitten, und die Mucosa abgeschabt. Die weitere Behandlung des Schleimhautmaterials erfolgte wie in Abschnitt a) beschrieben.

3. Herstellung der Ausstrichpräparate.

Von den gewonnenen Zellsuspensionen wurden nach der Blutaussstrichmethode fünf Magen- und ein Jejunumzellausstrich angefertigt, und zwar jeweils auf 2/3 des Objektträgers, während auf dem verbliebenen 1/3 jeweils Lymphozyten ausgestrichen wurden (Abb. 3).

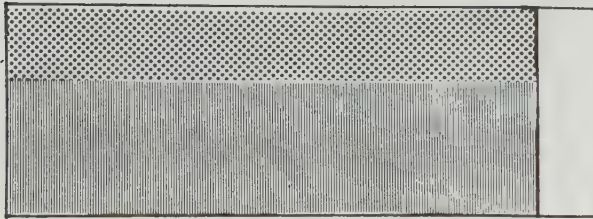


Abb. 3: Schema der Ausstrichpräparate.

Punktierte Fläche = Lymphozyten,

schraffierte Fläche = Magen- bzw. Darmepithelien.

Zur lichtmikroskopischen Kontrolle des Materials wurde in einem Vorversuch ein nach der gleichen Methode hergestellter Ausstrich mit Hämalaun-Eosin gefärbt (Abb. 4). Die stark eosinophilen, deutlich granulierten, großen Zellen, die als einzige noch ein einigermaßen gut erhaltenes Cytoplasma und eine intakte Zellmembran besaßen, konnten hierbei einwandfrei als Belegzellen identifiziert werden.

Für die Bestimmung des DNS-Gehaltes der Zellkerne wurden die Präparate einer nach BÖHM (1968) modifizierten Feulgen-Reaktion unterzogen. Nach zehnminütiger Fixierung in Methanol erfolgte die

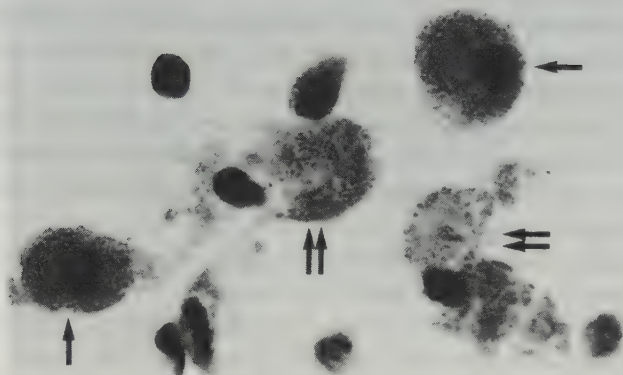


Abb. 4: Magenzellausstrich, HE, Objektivvergrößerung 63fach. Unterschiedlich gut erhaltene Belegzellen, zwei davon (←) für die DNS-Messung optimal präpariert, zwei weitere mit Membranerzstörung, jedoch noch sicher als Belegzellen zu identifizieren (⇐). Bei den übrigen Zellkernen handelt es sich um nicht mehr identifizierbares Magenzellmaterial.

Hydrolyse über 60 Minuten in 4n HCl bei 28°C. Anschließend wurde mit Aqua dest. gespült. Gefärbt wurde 60 Minuten lang mit auf Zimmertemperatur erwärmtem Schiffschem Reagens (Pararosanilin Chroma). Anschließend wurden die Präparate dreimal 10 Minuten mit Sulfitwasser differenziert und nochmals 5 Minuten mit Aqua dest. gespült. Nach Entwässerung in der aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol wurden die Ausstrichpräparate mit Eukitt (O. KINDLER, Freiburg i.Br.) eingedeckt und sofort lichtdicht verschlossen. Alle Präparate wurden in der beschriebenen Weise jeweils gleichzeitig behandelt.

4. Messung des DNS-Gehaltes der Zellkerne.

Die Bestimmung des DNS-Gehaltes der Zellkerne erfolgte durch Auflicht-Fluoreszenz-Messung. Die Messungen wurden an einem Leitz-Mikroskop-Photometer MPV 2, Ausrüstung für Absorptionsmessung mit Versorgungs- und Datenverarbeitungsgerät durchgeführt, bei welchem die digital angezeigten Meßwerte jeweils den Mittelwert aus zehn Meßimpulsen darstellen. Für die Auflicht-Fluoreszenz-Messung wurden das Grün-Erreger-Filter SS 546 und das Erreger-Filter K 610 verwendet.

Die Bestimmung des DNS-Gehaltes erfolgte an 400 Belegzellkernen und zum Vergleich an 325 Lymphozytenkernen, wobei die Lymphozytenwerte als Bezugssystem für einen diploiden DNS-Gehalt dienten (Lymphozyten-Standard). Um zu untermauern, daß sich die Lymphozyten als Bezugssystem eignen, wurden zusätzlich zur Kontrolle die Meßwerte von 50 Lymphozytenkernen und 60 Jejunum-epithelkernen, welche auf einem gemeinsamen Objektträger ausgestrichen und gleich behandelt worden waren, miteinander verglichen (Abb. 8).

Die Messung des DNS-Gehaltes der Belegzellkerne wurde in fünf Meßreihen an fünf Ausstrichen durchgeführt. Im Anschluß an jede Meßreihe von Belegzellkernen wurde der zugehörige Lymphozyten-Standard der auf dem gleichen Objektträger aufgebrachten Lymphozytenkerne bestimmt. Die Identifizierung der Belegzellen erfolgte im Phasenkontrast-Durchlicht-Verfahren. Hierbei waren die Belegzellen an ihrem erhaltenen Cytoplasma und der deutlichen Cytoplasma-Granulierung klar erkennbar. Zur Vermeidung von Mehrfach-Messungen wurden die Objektträger mäanderförmig abgesucht. Bei 100facher Vergrößerung fand sich in ungefähr jedem fünften Gesichtsfeld eine Belegzelle. Alle Zellkerne, auch die Lymphozytenkerne, wurden im Phasenkontrastlicht aufgesucht und eingestellt. Hiermit wurde eine Veränderung der Meßwerte durch die starke Anregungs-Strahlung vermieden.

Da jeder Meßwert von der Größe des Meßfeldes abhängig ist, wurde dieses vor Beginn jeder Meßreihe durch eine zentrierbare Irisblende konstant eingestellt, wobei als Maß die maximale Größe der Epithelzellkerne diente. Dieses Meßfeld wurde während der gesamten Meßreihe konstant gehalten. Da das Cytoplasma der Be-

legzellen den Meßwert jeweils geringfügig beeinflusst, wurde für jede Belegzelle dieser sogenannte 'Hintergrundswert' innerhalb des Cytoplasmas bestimmt (Abb. 5) und vom Hauptmeßwert subtrahiert. Bei den infolge der vorausgegangenen Trypsinierung cytoplasmafreien Lymphozyten (Abb. 2) und Jejunumepithelien genügte es, den Leerwert nach etwa jeder zehnten Messung zu bestimmen und den Mittelwert dieser Leerwert-Messungen von den einzelnen Kern-Messungen zu subtrahieren.

In jedem Arbeitsgang wurde jeweils nur ein Präparat fortlaufend ausgewertet, so daß keine Meßfehler durch ein unterschiedliches Ausbleichen der Feulgen-gefärbten Präparate entstehen konnten.

5. Statistische Berechnungen

Von den Meßwerten der Belegzellen und Lymphozyten jeder Meßreihe wurde das arithmetische Mittel bestimmt. Der Lymphozyten-Mittelwert wurde als der Absorptionswert aufgefaßt, der dem DNS-Gehalt von Zellkernen mit diploidem Chromosomensatz entspricht, und mit 2c bezeichnet (sog. Lymphozytenstandard) (Abb. 7-9).

Für die jeweiligen Meßreihen wurde außerdem die mittlere quadratische Abweichung vom Mittelwert (Standardabweichung) bestimmt.

Die Variationsbreite wurde für jede Meßreihe aus der Differenz des größten und des kleinsten Meßwertes errechnet.

Für die Lymphozyten und die Belegzellen aller fünf Meßreihen wurde jeweils eine Varianzanalyse durchgeführt. Mit dem F-Test wurde dann geprüft, ob eine Zusammenfassung aller fünf Meßreihen zulässig wäre.

Die Signifikanz der Mittelwertabweichungen zwischen Lymphozyten und Belegzellen wurde für jede Meßreihe mit dem t-Test geprüft.

Da eine größere Zahl von Einzelmessungen jeder Meßreihe vorlag, wurde die Häufigkeitsverteilung der Meßwerte jeder Meßreihe graphisch dargestellt. Hierfür wurden die in Arbeitseinheiten (AE) registrierten Meßwerte jeder Reihe in Klassen zu je drei AE zusammengefaßt (Abb. 7-9).

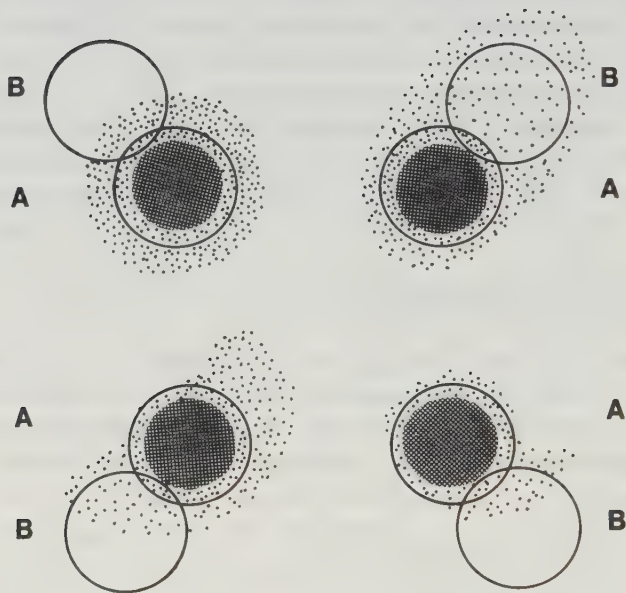


Abb. 5: Unterschiedlich gut erhaltene Belegzellen mit eingezeichneten Meßfeldern.

Stellung A: Messung des Zellkerns

Stellung B: Messung des Hintergrunds

Für die Hintergrundmessung wurde durch subjektive Schätzung ein Cytoplasmabereich gewählt, der der in die Zellkernmessung miteingegangenen Cytoplasmamenge möglichst genau entsprach. Bei gut erhaltenem, dicht granuliertem Cytoplasma war dies ein entsprechend kleinerer Bereich als bei schlecht erhaltenem, schwach granuliertem Cytoplasma.

III. Durchführung der Untersuchungen und Ergebnisse

=====

1. Zellgewinnung und -behandlung

Das Prinzip der Untersuchung besteht in der Bestimmung des DNS-Gehaltes vollständiger Belegzellkerne im Ausstrichpräparat. Die hierzu erforderliche Isolierung der Zellen der Magenschleimhaut durch enzymatische Lösung der Zellverbindungen mit Trypsin und Kollagenase, sowie die Gewinnung einer belegzellreichen Fraktion durch anschließende Zentrifugation wurden von SIN HANG LEE (1968) beschrieben. Die von dem Autor am Kaninchenmagen durchgeführten Untersuchungen wurden in der vorliegenden Arbeit schrittweise auf ihre Anwendbarkeit am Rattenmagen geprüft und mußten weitgehend abgewandelt werden.

Die enzymatische Zellisolierung kann bei Vermeidung vollständiger Zellzerstörungen nur an der vorfixierten Magenschleimhaut durchgeführt werden. Die von SIN HANG LEE angegebene und besonders rasch wirksame Perfusionsfixation mit Glutaraldehyd erwies sich in situ, wie auch am herausgenommenen Brust- und Bauchsitus en bloc technisch als außerordentlich schwierig und lieferte keine befriedigenden Ergebnisse.

Es wurden deshalb folgende Fixierungsmethoden erprobt:

1. Der aufgeschnittene Magen wurde auf ein Korkplättchen aufgespannt und drei Stunden in Formalin bei Zimmertemperatur fixiert.
2. Die Mucose wurde mit einem Skalpell abgeschabt und
 - a) eine Stunde in kaltem Glutaraldehyd (4°C),
 - b) eine Stunde in kaltem, neutralem Formalin (4°C),
 - c) drei Stunden in Glutaraldehyd bei Zimmertemperatur und
 - d) drei Stunden in Formalin bei Zimmertemperaturfixiert.

In allen Fällen wurde anschließend eine enzymatische Isolierung der Zellen mit Trypsin durchgeführt, wobei die dreistündige Formalinfixierung der abgeschabten Schleimhaut bei Zimmertemperatur das beste Ergebnis lieferte. Hierbei blieben die meisten Belegzellen erhalten.

Mit der von SIN HANG LEE (1968) angegebenen Methode zur enzymatischen Zellisolierung durch eine Kombinationsbehandlung mit Kollagenase und Trypsin ließen sich am Rattenmagen keine befriedigenden Ergebnisse erzielen. Die meisten Belegzellen waren stark lytisch verändert. Auch die empfohlene 24-stündige Vorbehandlung mit 0,25 M Sucrose verbesserte das Ergebnis nicht. Um eine für die Auswertung genügend große Menge erhaltener Belegzellen zu gewinnen, wurde schließlich eine vergleichende Versuchsreihe mit ausschließlicher Trypsin- und ausschließlicher Kollagenasebehandlung angesetzt (1%iges bzw. 0,5%iges Trypsin mit Einwirkungszeiten von 1-30 min; 1%ige bzw. 0,5%ige Kollagenase mit Einwirkungszeiten von 1-30 min). Das beste Ergebnis wurde bei dreiminütiger Behandlung der vorfixierten Magenschleimhautstückchen mit 0,5%igem Trypsin erzielt und für die Zellisolierung angewandt (s. Kap. II. Methodik). Durch die Trypsinierung der Schleimhautstückchen in drei aufeinanderfolgenden Arbeitsgängen mit jeweils angeschlossener Filtration sollten die bereits aus dem Gewebeverband gelösten Belegzellen vor einer weiteren Trypsineinwirkung geschützt, sowie eine vollständige Auswertung des Gewebes ermöglicht werden. An HE-gefärbten Probeausstrichen zeigte sich, daß letztlich nur die Belegzellen dem enzymatischen Angriff einigermaßen standhielten, während die Zellmembranen aller anderen Magen­zellen aufgelöst wurden und nur mehr die nackten Zellkerne vorlagen (Abb. 4).

Neben der enzymatischen Methode wurde außerdem die Zellisolierung durch Ultraschall versucht. Hierbei waren die Zellmembranen jedoch durchweg zerstört, diese Methode zur Zellisolierung also nicht brauchbar.

Die Anreicherung der Belegzellen in der Suspension erforderte ein längeres Experimentieren mit der Zentrifuge. Es durfte nicht mit zu hohen Umdrehungszahlen zentrifugiert werden, um die Belegzellen nicht mechanisch zu zerstören. Nach einer Zentrifugation mit 250 g waren die Belegzellen zwar erhalten, der Prozentsatz im Sediment jedoch zu niedrig. Erst die Zentrifugierung in einer Sucroselösung mit einem deutlichen Konzentrationsgradienten (0,50-0,88 M) führte zu einer für die cytophotometrische Auswertung genügenden Anreicherung

der Belegzellen im Sediment.

Ein nicht völlig zu lösendes Problem bestand darin, daß die mit Trypsin vorbehandelten Zellen eine deutliche Neigung zu konglomerieren zeigten. Trotz gründlicher Resuspension der Zentrifugationssedimente waren in den Ausstrichen immer wieder Zellkonglomerate zu sehen (Abb. 6). Wegen der Entstehung von Streulicht und wegen der Kernüberlappungen sind Zellkonglomerate für eine cytophotometrische Messung unbrauchbar. Auf diese Weise ging folglich Zellmaterial für die Messung verloren.

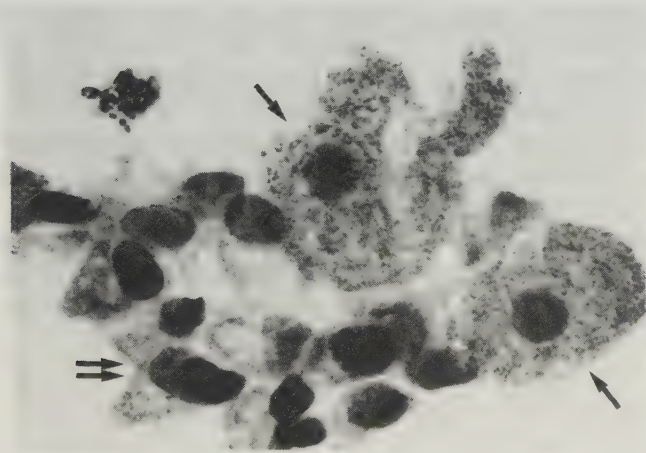


Abb. 6: Magenzellkonglomerat, HE, Objektivvergrößerung 100fach, Öl.

In dem Konglomerat befinden sich zwei für die DNS-Messung verwertbare Belegzellen (←), eine weitere (⇐) ist aufgrund der Kernüberlagerungen für die Messung nicht brauchbar. Links und unten zahlreiche unspezifische Zellen.

Für die Gewinnung von Lymphozyten als Vergleichszellen für die DNS-Bestimmung mußte zunächst das am besten geeignete lymphatische Gewebe gefunden werden. Da die Lymphknoten der Ratte sehr klein sind, waren sie zur Gewinnung einer ausreichenden Lymphozytenmenge nicht geeignet. Tupfpräparate der Milz zeigten eine sehr ungleichmäßige Verteilung der Lymphozyten, außerdem waren sie meist sehr stark von Erythrozyten durchsetzt, was sich bei der DNS-Bestimmung nachteilig auswirkte. In ausreichender Zahl konnten isolierte Lymphozyten nur aus dem Thymus gewonnen werden. Ausgewachsene Tiere konnten jedoch hierzu wegen der fortgeschrittenen Involution des Organs nicht verwendet werden. Die Lymphozyten wurden deshalb aus dem Thymus einer sechs Wochen alten Ratte gewonnen. Dabei wurde das Thymusgewebe der gleichen Behandlung unterworfen wie die Magenschleimhaut. Eine zum Vergleich durchgeführte Trypsinierung des Thymusgewebes ohne vorausgegangene Formalinfixierung ergab bei der DNS-Bestimmung eine breitere Streuung der Meßwerte (Abb. 7), was wohl auf die stärkere Andauung der Zellen zurückgeführt werden kann. Die HE-gefärbten Kontrollausstriche zeigten jedenfalls bei diesem Vorgehen eine ziemlich starke Trübung des Hintergrunds. Nach der dreistündigen Vorfixierung des Thymusgewebes waren die Ausstriche dagegen klar (Abb. 2).

Die gleichartig wie Magenschleimhaut und Thymusgewebe behandelte Jejunumschleimhaut lieferte im Ausstrichpräparat nur nackte Kerne.

Der Färbung der Ausstrichpräparate nach Feulgen ging eine sechzigminütige Hydrolyse bei 28°C voraus. Dieses Verfahren hat nach BÖHM (1968) gegenüber der Standardhydrolyse bei 60°C den Vorteil einer geringeren Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen der Temperatur, Säurekonzentration und Zeitdauer. Für Vergleiche zwischen verschiedenartigen Geweben ist nach

VAHS (1972) der hier angewandten Langzeithydrolyse unbedingt der Vorrang vor der Hitzehydrolyse zu geben, da die Langzeithydrolyse im Gegensatz zur Hitzehydrolyse eine totale Entfernung der basischen Kernproteine bewirke, welche somit nicht mehr als Störungsursache der Feulgenreaktion in Betracht kommen könnten.

2. DNS-Bestimmungen der Zellkerne

a) Lymphozytenkerne als Bezugssystem

Um den Einfluß der Formalinfixierung auf die Meßergebnisse zu prüfen, wurde zunächst eine vergleichende DNS-Messung an 60 mit Formalin fixierten und 60 unfixierten Lymphozyten durchgeführt.

Tab. 1: DNS-Gehalt bei fixierten und unfixierten Lymphozyten.

n: Anzahl der Messungen
m: Mittelwert in Arbeitseinheiten (AE)
V: Variationsbreite (AE)
S: Standardabweichung

	n	m	V	S
fixierte Lymphozyten	60	28,4	13,7	2,8703
unfixierte Lymphozyten	60	31,7	21,6	4,4933

Für Mittelwert, Variationsbreite und Standardabweichung ergaben sich bei den unfixierten Lymphozytenkernen deutlich höhere Werte (Tab. 1 und Abb. 7), deshalb wurden die für die Bestimmung des Lymphozytenstandards präparierten Thymuslymphozyten ebenso mit Formalin fixiert wie die Belegzellen.

Der Mittelwert der DNS-Werte der Lymphozytenkerne wurde als diploider DNS-Wert betrachtet (2c) und allen Messungen als Bezugswert (Lymphozytenstandard) zugrundegelegt.

Zur Sicherheit wurde der Lymphozytenstandard in einer weiteren

Meßreihe kontrolliert, wobei 50 Lymphozytenkerne mit 50 Jejunumepithelkernen, bei denen ebenfalls ein diploider DNS-Gehalt angenommen werden kann, verglichen wurden. Das arithmetische Mittel betrug bei den Lymphozyten 19,36 AE, bei den Jejunumkernen 20,88 AE. Die Meßwerte der Jejunumepithelkerne ergaben wie die der Lymphozyten eine Normalverteilung mit einem Häufigkeitsgipfel bei dem Wert, der dem DNS-Gehalt eines diploiden Zellkerns entspricht (Abb. 8). Im tetraploiden Bereich fanden sich keine Jejunumepithelkerne. Die Lymphozyten erschienen folglich als diploides Bezugssystem geeignet.

b) Belegzellkerne

In den fünf Meßreihen wurden Belegzellkerne mit dem jeweiligen Lymphozytenstandard verglichen (Abb. 9).

Für Belegzellkerne ergab sich wie für Lymphozyten eine Häufigkeitsverteilung im diploiden Bereich. Dabei war die Streuung relativ gering. Es wurde kein einziger Belegzellkern mit einem tetraploiden oder höherploiden DNS-Gehalt gefunden.

Für Lymphozyten und Belegzellen jeder Meßreihe wurden Mittelwert, Standardabweichung und Variationsbreite berechnet (Tab. 2).

Die Standardabweichung war in allen Meßreihen, die Variationsbreite in vier der fünf Meßreihen bei den Belegzellen höher als bei den Lymphozyten.

Obwohl die Untersuchungsbedingungen jeweils gleichgehalten worden waren, zeigt die Lage der Häufigkeitsgipfel in den einzelnen Meßreihen geringe Unterschiede. In fast allen Meßreihen wird bei den Belegzellen eine leichte Rechtsverschiebung gegenüber den entsprechenden Lymphozytengipfeln deutlich. Gemessen in absoluten Arbeitseinheiten zeigen die Belegzellgipfel allerdings eine ziemliche Konstanz, während einige Lymphozytengipfel (Abb. 9, c, d, e) leicht linksverschoben sind.

Ein Vergleich der arithmetischen Mittelwerte von Lymphozyten und Belegzellen wurde für jede Meßreihe mit Hilfe des t-Testes durchgeführt (Tab. 2). In allen fünf Meßreihen erwiesen sich die Differenzen der Häufigkeitsgipfel als signifikant.

Tab. 2: DNS-Gehalt von Lymphozyten- und Belegzellkernen in fünf Meßreihen (MR).

n: Anzahl der Messungen
 m: Mittelwert in Arbeitseinheiten (AE)
 V: Variationsbreite (AE)
 S: Standardabweichung
 t: errechneter t-Wert
 t_{sig} : Signifikanzschwelle für t nach Student bei 5 %
 Irrtumswahrscheinlichkeit

MR	n	m	V	S	n	m	V	S	t	t_{sig}
1	75	19,80	6,2	1,5573	200	20,80	11,8	2,3704	3,3784	1,960
2	50	19,85	5,1	1,4477	90	22,65	11,5	2,6145	7,0037	1,960
3	50	17,88	10,6	2,0339	50	20,52	9,5	2,3211	6,0018	1,990
4	50	17,86	7,0	1,1342	50	20,45	12,3	2,6709	6,3065	1,990
5	50	17,49	9,2	1,5708	50	21,65	12,4	2,3055	10,5236	1,990

LYMPHOZYTEN
 BELEGZELLEN

Um zu prüfen, ob die fünf Meßreihen für die rechnerische und graphische Darstellung zusammengefaßt werden durften, wurden für Lymphozyten und Belegzellen jeweils Varianzanalyse und F-Test durchgeführt (Tab. 3).

Tab. 3: Varianzanalyse und F-Test für Lymphozyten und Belegzellen.

	Ursprung der Variabi- lität	Summe der Ab- weichungs- quadrate	Zahl der Freiheits- grade	Varianz	Varianz- verhält- nis (F)
Lympho- zyten	zwischen den Gruppen	298,29	4	74,57	27,74
	innerhalb der Gruppen	704,35	270	2,69	
Beleg- zellen	zwischen den Gruppen	282,98	4	70,73	13,41
	innerhalb der Gruppen	2293,98	435	5,27	

Bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit beträgt bei den gewählten Freiheitsgraden die Signifikanzschwelle für $F = 5,63$. Sowohl das Varianzverhältnis der Lymphozyten als auch das der Belegzellen überschreiten diesen Betrag. Die fünf Meßreihen durften also aus statistischen Gründen nicht zusammengefaßt werden.

Bei der graphischen Darstellung der Meßergebnisse (Abb. 7-9) ist auf der Abszisse der DNS-Gehalt der Kerne in Arbeitseinheiten (AE) aufgetragen. Die Anzahl der Meßwerte ist auf der Ordinate in Prozent der Gesamtzahl der Messungen pro Meßreihe angegeben.

Da die Anzahl der Gesamtmessungen in den einzelnen Meßreihen unterschiedlich ist, ermöglicht diese Darstellungsweise einen besseren Vergleich der einzelnen Meßreihen. Die 2c-Linie wurde durch den graphischen Mittelwert der Lymphozyten gelegt. Die 4c-Linie kennzeichnet den doppelten DNS-Gehalt des graphischen Mittelwerts der Lymphozyten und gibt somit den tetraploiden Mittelwert an. In diesem Bereich fanden sich in keiner der fünf Meßreihen Belegzellkerne.

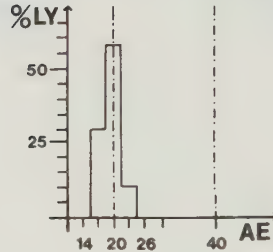
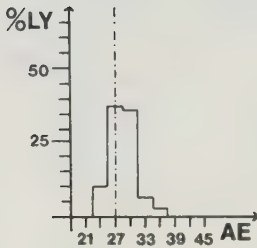
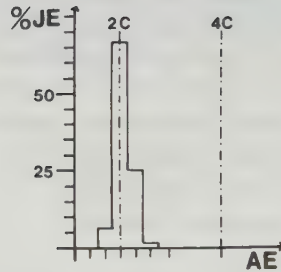
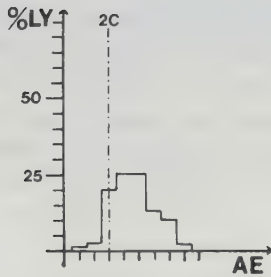


ABB: 7

ABB: 8

Abb. 7: Vergleichende cytophotometrische DNS-Bestimmung in Arbeitseinheiten (AE) von fixierten (unten) und unfixierten (oben) Lymphozytenkernen (Ly).
Bei den fixierten Lymphozyten ist die Streuung um den Häufigkeitsgipfel geringer als bei den unfixierten.
2c = diploider Bezugswert der fixierten Lymphozyten.

Abb. 8: Vergleichende cytophotometrische DNS-Bestimmung in Arbeitseinheiten (AE) von Lymphozytenkernen (unten) und Jejunumepithelkernen (oben).
Ly = Lymphozytenkerne
Je = Jejunumepithelkerne
Sowohl Lymphozyten- als auch Jejunumepithelkerne zeigen eine Normalverteilung mit einem Häufigkeitsgipfel, der dem diploiden Bereich entspricht.

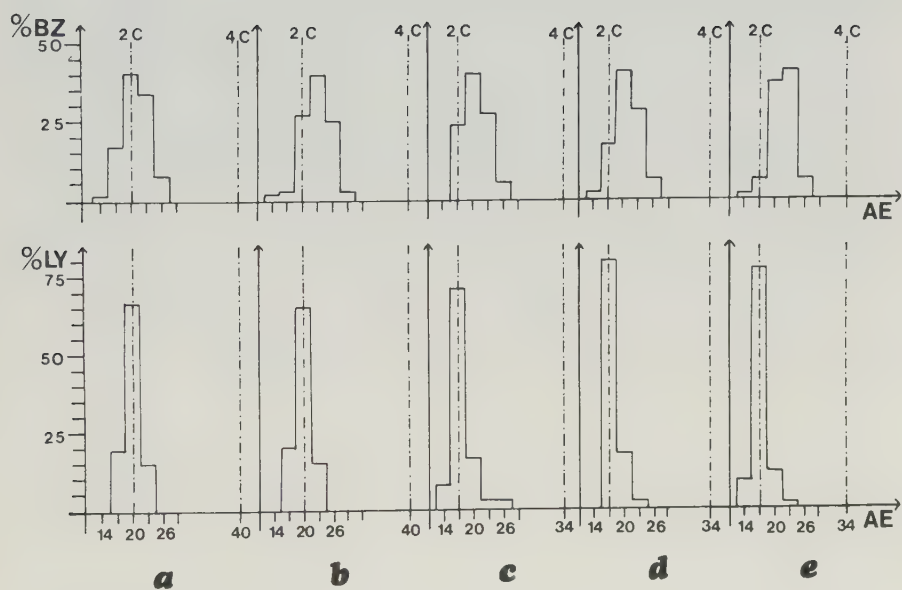


ABB:9

Abb. 9: Vergleichende cytophotometrische DNS-Bestimmung in Arbeitseinheiten (AE) von Lymphozytenkernen (unten) und Belegzellen (oben) in fünf Meßreihen (a-e).

Ly = Lymphozytenkerne

BZ = Belegzellkerne

Im tetraploiden Bereich (4c) fand sich kein einziger Belegzellkern.

IV. Diskussion =====

In der vorliegenden cytophotometrischen Untersuchung konnte gezeigt werden, daß die Belegzellen des Rattenmagens einen DNS-Gehalt besitzen, der ungefähr eine Normalverteilung um den diploiden Wert aufweist.

Eine Zusammenfassung der fünf Meßreihen erwies sich als unzulässig. Als Begründung dafür ließe sich anführen, daß hierbei vielleicht geringe technische bzw. präparativ bedingte Unterschiede zum Ausdruck kommen, da die Zellen jeder Meßreihe einer anderen Ratte entstammten und die Meßreihen an fünf aufeinander folgenden Tagen durchgeführt worden waren. Außerdem wurden die Ausstrichpräparate auf fünf bezüglich Brechungsindex und Dicke nicht vorsortierten Objektträgern angefertigt, und zur Einbettung nicht genau gleiche Mengen Eukitt verwendet.

In allen fünf Meßreihen zeigte sich gegenüber den gleichzeitig gemessenen Thymuslymphozytenkernen eine höhere Standardabweichung der Belegzellen, in vier von fünf Meßreihen eine größere Variationsbreite. Da der 'Hintergrundswert' des Belegzellcytoplasmas bei jeder Messung subtrahiert werden mußte, und dies eine subjektive, auf Schätzung beruhende Bestimmung war, könnte man die Abweichungen mit den sich hieraus ergebenden Meßungenauigkeiten erklären (s. a. Abb. 5). Da die Lymphozytenkerne praktisch nackt sind, entfällt bei ihrer DNS-Bestimmung diese Fehlermöglichkeit.

Es fällt auf, daß sich bei fast allen Untersuchungen konstant eine leichte Rechtsverschiebung der Belegzellen gegenüber den Lymphozytenkernen ergab, sodaß bei diesem Vergleich der DNS-Gehalt der Belegzellen als leicht hyperdiploid zu bezeichnen ist, obwohl der Mittelwert absolut gesehen konstant bleibt.

Diese relative Mittelwertverschiebung könnte ebenfalls auf den größeren Meßungenauigkeiten bei den Belegzellen beruhen. Möglicherweise wurde der 'Hintergrundswert' des Belegzellcytoplasmas häufig nicht vollständig subtrahiert, sodaß die DNS-Werte relativ zu hoch liegen.

Es wäre aber auch denkbar, daß dieser Unterschied zwischen dem DNS-Gehalt der Lymphozyten und der Belegzellen real ist. FAUTREZ (1966) wies in einer ausgedehnten cytophotometrischen Untersuchung an verschiedenen Organsystemen der Ratte unter physiologischen, pathologischen und experimentellen Bedingungen nach, daß der mittlere DNS-Gehalt entgegen der Theorie von der absoluten Konstanz der DNS von Organsystem zu Organsystem schwankt.

Größere meßtechnische Fehler, wie sie bei der DNS-Bestimmung am histologischen Schnitt durch Kernanschnitte und evtl. auch durch Kernüberlagerungen entstehen könnten, wurden jedenfalls durch die Messung von ganzen Belegzellkernen im Ausstrich vermieden.

Als wichtigstes Ergebnis ist festzuhalten, daß nicht eine einzige Belegzelle mit einem tetraploiden oder höherploiden DNS-Gehalt des Kerns gefunden wurde. Damit ergibt sich ein wesentlicher Unterschied zu den Verhältnissen in der Leber, die bei Ratten einen relativ größeren Prozentsatz höherploider Kerne enthält, der mit dem Alter zunimmt (PELC 1963). Da es sich bei den verwendeten Versuchstieren um jüngere erwachsene Ratten handelte, kann eine mit zunehmendem Alter möglicherweise auftretende Polyploidisierung der Belegzellen durch die vorliegende Untersuchung nicht ausgeschlossen werden.

Im Hinblick auf die einleitend erörterte Frage nach dem Modus der Belegzellregeneration erlauben die vorliegenden Ergebnisse folgende Aussage:

Die Magenschleimhaut der Ratte verfügt nicht über tetraploide Belegzellen, die als "Notfallreserve" bei Bedarf durch sofortige mitotische oder amitotische Teilung für eine rasche Belegzellvermehrung sorgen könnten, wie dies für die Leber vermutet wurde (GRUNDMANN 1960 u. 1969). Auch die von JIRMANN (1971) und KLEIN (1969) beschriebene 20prozentige Belegzellzunahme innerhalb der so kurzen Zeit von einer Woche nach Pentagastrinstimulierung kann daher unter Berücksichtigung der eingangs erwähnten autoradiographischen Untersuchungsergebnisse nur so gedeutet werden, daß sie durch Differenzierung aus Vorläuferzellen zustande kam.

V. Zusammenfassung

=====

Die Mucosa von fünf Rattenmägen wurde vorsichtig mit dem Skalpell abgeschabt, mit Formalin vorfixiert und anschließend mit Trypsin behandelt. In den so gewonnenen Zellsuspensionen wurde durch mehrmaliges Zentrifugieren eine Anreicherung der Belegzellen erreicht.

Mit diesem Zellmaterial wurden fünf Ausstrichpräparate angefertigt und mit einer modifizierten Feulgenreaktion gefärbt.

Die Belegzellen hatten als einzige Zellen noch ein mehr oder weniger gut erhaltenes Cytoplasma und konnten daran mit der Phasenkontrastoptik des Mikrophotometers identifiziert werden.

Als diploides Bezugssystem für die cytophotometrische DNS-Bestimmung dienten ebenfalls mit Formalin vorfixierte Thymuslymphozyten der Ratte, die sich jeweils auf dem gleichen Objektträger befanden wie die Belegzellen.

Die fünf Ausstrichpräparate wurden in fünf Meßreihen ausgewertet. Die cytophotometrische Messung umfaßte insgesamt 400 Belegzellen und 325 Vergleichslymphozyten. In allen fünf Meßreihen zeigte sich eine leichte Rechtsverschiebung der Belegzellen-DNS-Werte gegenüber den Lymphozyten. Diese Abweichungen sind möglicherweise meßtechnisch bedingt.

Im tetraploiden DNS-Bereich wurde keine einzige Belegzelle gemessen. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß sich die Belegzellen unter den im Rahmen dieses Experiments gegebenen Bedingungen durch eine Differenzierung aus Vorläuferzellen vermehren.

VI. Literaturverzeichnis:

=====

BREUNSBACH, Jochen:

Zur Regeneration der Fundusdrüsenzellen des Ratten-
magens unter physiologischen Verhältnissen und nach
maximaler Funktionsbelastung - eine autoradiographi-
sche Untersuchung.

Inauguraldisertation Köln, 6.5.1971.

BÖHM, N.:

Einfluß der Fixierung und der Säurekonzentration auf
die Feulgen-Hydrolyse bei 28°C.

Histochemie 14, 201-211 (1968).

CAVALLI-SFORZA, L.:

Biometrie.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969.

FAUTREZ, I.:

Des noyaux interphasiques en fonction de l'activité
cellulaire et leurs relations avec les variations du
volume nucléaire.

Handb. d. Histoch. 8III/3, 54-100 (1966).

GOKEL, F.M.:

Persönliche Mitteilung.

Pathologisches Institut der Universität München.

GRUNDMANN, E. und G. BACH:

Amitosen, Endomitosen und Mitosen nach partieller
Hepatektomie.

Beitr. Pathol. Anat. 123, 168-210 (1960).

GRUNDMANN, E. und H.J. SEIDEL:

Die reparative Parenchymregeneration am Beispiel der
Leber nach Teilhepatektomie.

Handb. d. Allgem. Pathologie Bd. VI/2 II, 129-243

Springer Verlag (1969).

HARMS, W.:

Über den Ersatz der Haupt- und Belegzellen im Magen
der Maus.

Anat. Hefte 41, 391-397 (1910).

HUNT, E.:

Regeneration of the gastric mucosa in the rat.

Anat. Rec. 131, 193-212 (1958).

HUNT, E. and A. HUNT:

Radioautographic study of proliferation in the stomach
of the rat using thymidine -H³ and compound 40/80.

Anat. Rec. 142, 505-517 (1962).

JIRMANN, V.:

Belegzellhyperplasie nach Pentagastrinstimulierung.

Inauguraldissertation Köln, 1971.

KLEIN, H.J.:

Tierexperimentelle Untersuchungen zur Struktur und Funk-
tion der Magenschleimhaut unter normalen und pathologi-
schen Bedingungen.

Habilitationsschrift, Universität Köln 1969.

LAWSON, H.H.:

The origin of chief and parietal cells in regenerating
gastric mucosa. Brit. J. Surg., 57, 139-141 (1970).

LAWN, A.M.:

Observations of the fine structure of the gastric parietal cells of the rat.

J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 161-166 (1960).

MESSIER, B. and C.P. LEBLOND:

Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine -H³ into male rats and mice.

Am. J. Anat. 106, 247-285 (1960).

PELC, S.R.:

Zunahme oktoploider Zellen bei alten Ratten.

Exptl. Cell Res. 29, 194-201 (1963).

PLENK, H.:

Der Magen.

In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. 5, Teil. 2. Springer Berlin 1932.

RAGIN, F. WINCZE and M. DITTBRENNER:

The origin and survival of gastric parietal cells in the mouse.

Anat. Rec. 162, 99-110 (1968).

RUBIN, W., L. ROSS, M. SLEISENGER and G. JEFFRIES:

The normal human gastric epithelia.

A fine structural study.

Lab. Invest. 19, 598-626 (1968).

SIN HANG LEE:

Isolation of parietal cells from glutaraldehyd fixed rabbit stomach.

J. Histochem. Cytochem. 20, 634-643 (1972).

STEVENS, E. and C.P. LEBLOND:

Renewal of the mucous cells in the gastric mucosa of the rat.

Anat. Rec. 115, 231-246 (1953).

TEIR, H., A. SCHAUMANN and B. SANDELL:

Mitotic ratio and colchicin sensitivity of the stomach epithelium of the white rat.

Acta.anat. 16, 233-244 (1952).

VAHS, W.:

Die Bedeutung der Hydrolyse-Art in der Feulgen-Cytophotometrie von Kernen mit unterschiedlichen Ploidiegraden.

Histochem. 33, 343-349 (1972).

WILLEMS, G., P. GALAND, VANSTEENKISTE and P. ZEITOUN:

Cell population kinetics of zymogen and parietal cells in the stomach of mice.

Z. Zellforsch. 134, 505-518 (1972).

ZIMMERMANN, K.W.:

Beitrag zur Kenntnis des Baues und der Funktion der Fundusdrüsen im menschlichen Magen.

Erg. Physiol. 24, 281-307 (1925).

Lebenslauf

Am 7.3.1951 wurde ich, Marlies Ditzmann, als Tochter des Ministerialrates Hans Bergmeier und seiner Ehefrau Annemarie, geb. Sattler, in München geboren.

Vom Herbst 1957 an besuchte ich hier vier Jahre lang die Volksschule an der Tumblingerstraße. 1961 kam ich in das Neusprachliche Gymnasium der Armen Schulschwestern am Anger in München, wo ich 1970 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1970/71 begann ich an der Ludwig Maximilians-Universität in München das Medizinstudium. Hier legte ich nach zwei Semestern das Vorphysikum, nach drei weiteren das Physikum ab. Im Sommersemester 1973 begann ich mit der Arbeit an meiner Dissertation. Am 11. April 1975 heiratete ich den Semester- und Fachkollegen Franz Ditzmann. Mein Studium konnte ich am 11. Juni 1976 mit dem Staatsexamen in München beenden. Als Medizinalassistentin arbeitete ich vom 1. August - 31. Oktober 1976 in der Kinderklinik der Technischen Universität München, vom 1. November 1976 - 28. Februar 1977 in der 3. Medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Harlaching und vom 1. März - 31. März 1977 nochmals in der Kinderklinik der Technischen Universität München. Seit 1. April 1977 bin ich für vier Monate Medizinalassistentin in der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München-Harlaching.

